

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

528570

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2004年4月1日 (01.04.2004)

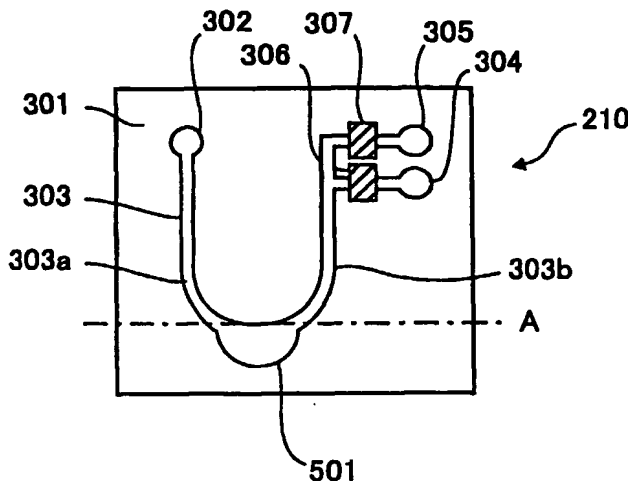
PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/027391 A1

- (51) 国際特許分類: G01N 1/10 701号室 Kanagawa (JP). 堀池 靖浩 (HORIIE, Yasuhiro) [JP/JP]; 〒202-0021 東京都 西東京市 東伏見 3丁目2番地12号 Tokyo (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2003/011909
- (22) 国際出願日: 2003年9月18日 (18.09.2003) (74) 代理人: 山田 文雄, 外(YAMADA, Fumio et al.); 〒107-0062 東京都 港区 南青山1丁目15番2号 越山ビル4階 Tokyo (JP).
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語 (81) 指定国 (国内): CN, KR, US.
- (30) 優先権データ:
特願2002-275853 2002年9月20日 (20.09.2002) JP (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR).
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人科学技術振興機構 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY AGENCY) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県 川口市本町4丁目1番8号 Saitama (JP).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
— 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。
- (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 小川 洋輝 (OGAWA, Hiroki) [JP/JP]; 〒222-0033 神奈川県 横浜市 港北区新横浜2-18-1 センチュリー新横浜 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: BLOOD ANALYZER AND METHOD OF SEPARATING PLASMA

(54) 発明の名称: 血液分析装置及び血漿分離方法



(57) Abstract: In a blood analyzer for separating plasma in a flow channel due to a centrifugal operation, it is intended to effectively utilize a whole blood sample supplied into the flow channel, shorten the flow channel and reduce the device size. It is also intended to reduce the amount of the blood to be collected, thereby reducing the burden on a subject. A blood cell pool wherein blood cells are precipitated is provided in a flow channel of a blood analyzer along the centrifugal direction upon centrifugation. Then blood cells are cumulated in the pool by centrifugation so that the plasma fraction is allowed to continuously exist in both of the upstream and downstream sides of the U-shaped flow channel without being divided by the blood cell fraction. Thus, the plasma in a required amount can be fed into the analysis means using a smaller amount of the whole blood. Therefore, the whole blood can be utilized more efficiently, which is suitable for the shortening of the flow channel and the reduction of the device size. The plasma, which is not divided by the blood cell fraction, can be transferred due to a

lower negative suction pressure. Thus, the pump capacity required in drawing the plasma can be reduced, which contributes to the size reduction and cost down of peripheral devices.

(57) 要約: 遠心操作により流路内で血漿分離を行う血液分析装置において、流路内に導入した全血試料の有効利用を図り、流路長の短縮化、装置の小型化を図る。さらに採血量を減少させることにより被採血者の負担を軽減する。血液分析装置内の流路に、遠心分離時の遠心方向に血球が沈澱する血球溜めを配置し、そこに遠心分離により血球を集積させ、U字流路の上流、下流側の血漿分画が血球分画で分断されことなく、連続的に存在するようにする。より少ない全血量で、必要量の血漿を分析手段へと導くことができる。全血試料の有効利用を図れるので、流路長の短縮化、装置の小型化に適する。血球分画で分断されていない血漿は小さな吸引負圧により移動させることができる。血漿引き込みに要するポンプ能力を小さくできることから周辺装置の小型化、コストダウンを図れる。

WO 2004/027391 A1

明 細 書

血液分析装置及び血漿分離方法

5

技術分野

本発明は、石英板や高分子樹脂板などの絶縁材基板に作製した超小型の溝流路によって構成されたチップ状血液分析装置に関する。特に、当該チップ上の溝流路に微量（数 μ L以下）の血液を導入して遠心分離を行い、血球分画と血漿成分に分離した後に血漿成分中の種々の化学物質濃度を測定する際の、当該血漿成分を有効に活用するための血漿分離方法ならびにこのようなチップ状血液分析装置の溝流路構造に関する。

10

背景技術

従来の健康診断や疾病状態の診断は、患者から数ccの多量の血液を採取し、その分析に大規模な自動血液分析装置で得た測定値より行われてきた。通常、このような自動分析装置は、病院などの医療機関に設置されており、規模が大きく、また、その操作は専門の資格を有するものに限られるものであった。

15

しかし、近年、極度に進歩した半導体装置作製に用いられる微細加工技術を応用し、たかだか数mmから数cm四方のチップ上に種々のセンサなどの分析装置を配置して、そこに被験者の血液などの体液を導き、被験者の健康状態を瞬時に把握することができる新しいデバイスの開発とその実用化の気運が高まってきている。このような安価なデバイスの出現により、来たるべき高齢化社会において老人の日々の健康管理を在宅で可能にすることなどで増加の一途を辿る健康保険給付金の圧縮を図れる。また救急医療の現場においては被験者の感染症（肝炎、後天性免疫不全症など）の有無を本デバイスを用いて迅速に判断できれば適切な対応ができるなど、種々の社会的な効果が期待されるために非常に注目されつつある技

20

25

術分野である。このように従来の自動分析装置に代わって、血液分析を各家庭で自らの手で実施することを目指した小型簡便な血液分析方法ならびに血液分析装置が開発されている（例えば、特開２００１－２５８８６８号）。

図１は、特開２００１－２５８８６８号に記載されたマイクロモジュール化された血液分析装置の一例を示す。符号１０１は血液分析装置の下側基板であり、下側基板上にエッチングにより形成した微細な溝流路（マイクロキャピラリ）１０２が設けられている。この下側基板１０１の上には、略同一サイズの上側基板（不図示）が張り合わされ、溝流路１０２を外部から密閉している。

流路１０２には、最上流部から最下流部にかけて、血液採取手段１０３、血漿分離手段１０４、分析手段１０５、移動手段１０６が順次設けられている。流路最前部の血液採取手段１０３には、中空の採血針１０３ａが取付けられ、この針１０３ａを体内に刺して基板内への血液の取り入れ口とする。分離手段１０４は、流路１０２の途中を湾曲させたもので例えばＵ字型のマイクロキャピラリからなる。採取した血液をこのＵ字型のマイクロキャピラリに導いた後、本基板を遠心分離器により一定方向に加速度を加えることによって、Ｕ字部最下部に血球成分を沈殿させ、上清として血漿を分離する。分析手段１０５は、血液中のｐＨ値、酸素、二酸化炭素、ナトリウム、カリウム、カルシウム、グルコース、乳酸などの各濃度を測定するためのセンサである。

流路最下流部に位置する移動手段１０６は、マイクロキャピラリ中で血液を電気浸透流により移動させるものであり、電極１０７、１０８と、その間をつなぐ流路部分１０９からなる。この電極間に電圧印加して生じる電気浸透流により流路内に予め満たしておいた緩衝液を流路下流側に移動させ、生じる吸引力によって流路１０２最前部の採取手段１０３から基板内に血液を取り入れる。また、遠心分離により得られた血漿を分析手段１０５に導く。

１１０は分析手段から情報を取り出すための出力手段であり、電極などから構成される。１１１は、以上の採取手段、血漿分離手段、分析手段、移動手段、出力

手段を必要に応じて制御するための制御手段である。

採取手段 103 より採取された血液は、分離手段 104 にて血漿と血球成分に分離され、この血漿成分を分析手段 105 に導き、そこで血漿中の pH 値、酸素、二酸化炭素、ナトリウム、カリウム、カルシウム、グルコース、乳酸などの各濃度
5 度を測定する。各手段間の血液の移動は、電気泳動や電気浸透などの現象を用いたものなどポンプ能力を有する移動手段 106 により行う。なお、図 1 では流路 102 の下流域は 5 つに分岐し、このそれぞれに分析手段 105、移動手段 106 が設けられている。

このような血液分析装置の基板には石英などのガラス材料が用いられることが多かったが、装置を大量にまた費用を抑えて製作するのにより適するものとして、
10 樹脂素材が用いられるようになってきている。

図 1 に示した従来の血液分析装置の場合、採取手段 103 により血液を採取し、分離手段 104 にて血漿と血球成分に分離し、この血漿成分を分析手段に導き、血漿中の種々の成分分析を行う。しかしながら分離手段において、血液を遠心分離により血漿と血球成分に分離すると、U 字流路最下部に沈殿した血球分画が流路を塞ぐこととなり、上清である血漿が U 字流路の上流側 102a と下流側 102b に分断される。このため下流側の血漿のみしか分析手段に導くことができず、
15 上流側の血漿成分は利用できないという問題があった。

この様子を図 2 を用いて簡単に説明する。図 2 は従来の血液分析装置の作製の様子
20 を示すものである。まず同図 (A) のように 2 枚の基板、例えば樹脂のような材料で構成された下基板 301 および上基板 301A を用意し、一方の下基板 301 上に幅 100 ミクロン程度、また深さ 100 ミクロン程度の溝流路 303 をモールドニングなどの方法により形成する。この溝流路 303 の一部は、図示するように U 字型流路が含まれる。上基板 301A 上には、被検査血液を導入するための入力側貫通穴 302、血液を流路へと引き込むために外部ポンプを接続するための出力側貫通穴 304、305 および血漿中のそれぞれ異なる項目を検出する
25

分析手段 306, 307 が構成されている。両基板 301, 301A2 を互いに熱圧着、接着剤、接着テープなどにより接合して血液分析装置 200 を作製する (図 2 (B))。

図 3 はこうして作製された血液分析装置の平面模式図であり、ヒト全血を血液分析装置の流路に導入して遠心分離する様子を示す。図 3 (A) に示す血液分析装置の入力側貫通穴 (血液導入口) 302 に 1 μ L 程度の血液をたらし (図 3 (B))、出力側貫通穴 (排出口) 304、305 からポンプで流路 303 へと全血 308 を導く (図 3 (C))。次に U 字流路方向 (図 3 (C) 中の矢印方向) に力が作用するように血液分析装置 200 を回転させ遠心分離を行う。すると図 3 (D) に示すように U 字流路 303 の両側に血漿分画 309、310 と U 字流路下部に血球分画 311 とに全血が分離される。その後に入力側貫通穴 304、305 にポンプ等を接続して、下流側血漿分画 310 を分析手段 306、307 へと導いていき (図 3 (E))、そこでそれぞれの被検査化学物質の検出・濃度測定を行う。

しかしながらこのような U 字流路の場合、図 3 (D) で示される上流側血漿分画 309 は、血球分画 311 に流路を塞がれ、分析手段に導いて使用することができない。これは検査に必要な血液量を不必要に増加させていることを意味し、もしこのような上流側の血漿分画も分析手段へと導き用いることができれば、検査に必要な血液量は単純に約半分にまで減少することができる。このことは、流路の全長を短縮し、ひいては血液分析装置全体のさらなる小型化を可能にする。

また図 1 ~ 3 の従来血液分析装置では、図 3 (E) に示すように全血の遠心分離後に下流側血漿成分 310 を分析手段 306、307 へと導く際には、血球分画 311 と上流側血漿成分 309 も同時に移動させなければならない。このとき血球分画 311 は流路 303 の内壁にへばりついているので、ポンプ等でこれらを移動させるためには、遠心前に全血を流路に引き込むときよりも大きな吸引力ポンプ力が必要されるという問題があった。

上記のような課題を解決する手段として、図 4 に示すように U 字流路の上流側と下流側との間に新たにバイパス流路 401 を設ければ、遠心分離後、上流側血漿を下流側へと導くことができる。しかし、そのためには遠心分離が終了するまでこのバイパス流路を閉めておく必要があり、このバイパス流路 401 の出入り口に新たに弁 402、403 を設置しなければならず、これの制御を含めると大がかりな装置となってしまう現実的ではない。

そこで本発明の発明者らは遠心分離後の血球成分が流路の壁にへばりついていることに注目して、これを逆に利用することで若干の流路形状の改良のみで従来装置の課題を克服することを試みた。すなわち、遠心分離により血球成分と血漿成分が分離したときの血球成分が溜まる部分の流路を他のそれよりも太くし、そこに血球成分を溜め、また上流側と下流側の血漿成分はその溜め部分の血球の溜まっていない部分を介して連続的に血漿でつながっているようにする。このようにした後にポンプ等で分析手段へと血漿を引き込めば、上流側と下流側の血漿は連続的につながっているため、それほど大きなポンプ力を必要とせず、かつ分離したすべての血漿成分を分析手段へと導くことができる。

すなわち、本発明は、遠心操作により流路内で血漿分離を行う自動分析装置であって、流路内に導入した全血試料の有効利用を図り、流路長の短縮化、装置の小型化に適し、さらに採血量を減少させることにより被採血者の負担を軽減することができる血液分析装置を提供することを第 1 の目的とする。

また本発明は、遠心操作により流路内で血漿分離を行う自動分析装置を使用する際に、流路内に導入した全血試料の有効利用を図ることができる血漿分離方法を提供することを目的とする。

発明の開示

本発明によれば、第 1 の目的は、血液導入口と排出口との間を連通する流路と、この流路の途中に設けられた血漿分離手段とを備える血液分析装置において：

前記流路は、遠心力加圧方向に延伸する前記流路の上流部と遠心力加圧逆方向に延伸する下流部とを備え；前記血漿分離手段はこれら流路上流部と下流部の間にあって、遠心力加圧方向側に位置して血球分画を沈殿させて収容する血球分画収容部を備え、前記流路の上流部及び下流部は血球分画収容部に接しつつ血球分画収容部の上部で互いに連通するように構成されていることを特徴とする血液分析装置、により達成される。

例えば、流路の一部をU字型流路とすれば、このU字型流路最下部（遠心力のGがかかる部分）を血球分画収容部とすることができる。この血球分画収容部は、U字型流路の最下部から下方（遠心G加重方向）に突出した空間であればよくU字型流路最下部の上部内壁から遠心力加圧方向に位置する血球分画収容部の容積が、前記流路に導入される血液中の血球分画量よりも大であれば、血球分画収容部の上部は上流部・下流部の上清血漿を連通することができる。

血漿分離手段と排出口の間に、血漿の成分分析を行う分析手段を設けてもよい。また血液導入口に採血針を取り付け可能とすれば、採血針から採血した全血を直接流路内に導入することができる。

本発明の第2の目的は、以下のステップからなる血漿分離方法：

(1) 血液導入口と排出口との間を連通する流路であって、血液導入口から遠心力加圧方向に延伸する上流部と、この下流にあって遠心力加圧逆方向に延伸する下流部とを備える流路と；

流路上流部と下流部の間にあって遠心力加圧方向側に位置して血球成分を沈殿させて収容する血球分画収容部を有し、前記流路の上流部及び下流部は血球分画収容部に接しつつ血球分画収容部の上部で互いに連通するように構成されている血漿分離手段とを備えるチップ状血液分析装置を用意し；

(2) 前記血液導入口から前記流路に全血試料を導入し；

(3) 血液分析装置を前記血球分画収容部が遠心力加圧方向となるように遠心することにより、血液試料中の血球成分を前記血球分画収容部に沈殿させる一方、

前記流路の上流部及び下流部に遠心上清として分離された血漿を、前記血球分画収容部内の血球分画と接しつつ、互いに連続的に存在させる、によって達成することができる。

- 5 血液分析装置の血漿分離手段と排出口の間に血漿中の成分分析を行う分析手段を備えている場合には、ステップ(3)の後に、流路の上流部及び下流部に連続的に存在する血漿を分析手段に導くことができる。

図面の簡単な説明

- 図1は、従来のチップ状血液分析装置の説明図である。
- 10 図2は、従来のチップ状血液分析装置作製の工程の説明図である。
- 図3は、図2の血液分析装置上に全血を導入し、遠心分離により血漿と血球分画に成分に分離する様子を示す図である。
- 図4は、従来の血液分析装置の構成の変更例を示す図である。
- 図5は、本発明の血液分析装置の一実施態様の概念模式図である。
- 15 図6は、図5の血液分析装置に血液を導入して、血漿と血球分画とに分離し、その後に血漿分画を分析手段へ導く各工程を説明する図である。
- 図7は、遠心分離装置に本発明の血液分析装置を設置し、遠心分離を行っている様子を説明する図である。
- 図8は、本発明による図5の血液分析装置の構成の一例を説明する図である。
- 20 図9は、第2実施例で使用した本発明の血液分析装置の実施態様の概念模式図と、これに血液を導入して遠心分離を行った後の様子を説明する図である。
- 図10は、第3実施例で使用した本発明の血液分析装置の実施態様の概念模式図と、これに血液を導入して遠心分離を行った後の様子を説明する図である。
- 図11は、第4実施例で使用した本発明の血液分析装置の実施態様の概念模式
- 25 図と、これに血液を導入して遠心分離を行った後の様子を説明する図である。
- 図12は、第5実施例で使用した本発明の血液分析装置の実施態様の概念模式

図と、本発明の血漿分離方法により、血液から血漿を分離する様子を説明する図である。

発明を実施するための最良の形態

5 実施態様

図5は本発明に基づく流路を有する血液分析装置の一実施態様を示す。本血液分析装置210は基本的には図3に示した装置200とほとんど同じ構成であるが、U字流路最下部の遠心分離時に最も重力加速度が印加されるあたりの流路303をくびれさせて、広くしてある血球溜め（血球分画収容部）501がある点
10 が異なる。同一構成部分には同一符号を付してるので説明を繰り返さない。

この血液分析装置の動作の様子を以下に説明する。図6（A）に示すように血液分析装置に全血を導入した後、図7に示すような遠心分離装置に当該血液分析装置210をセットして全血の遠心分離を行う。このとき回転の遠心方向に血液分析装置上の血球溜め501があるように血液分析装置210を設置し、この血
15 球溜め501に遠心により血球分画が沈澱する。なお、701はモーター、702はモータシャフト、703はチップ支持板、706は balan サチップである。

遠心操作後の血液分析装置210の流路内の様子を図6（B）に示す。血球溜め501下部には血球分画603が遠沈し、またその上部の流路303には血漿成分602が上清として分離される。このとき、従来の血液分析装置の場合（図
20 3参照）とは異なり、血漿分画がU字流路内で上流部303aから下流部303bにかけて血球分画603に分断されることなく連続的に存在することが重要である。

このためには、図5に図示するように流路303の最下部での内壁上端位置Aから下方に位置する血球溜め（血球成分収容部）501の容量が、流路303に
25 導入された全血中の血球成分量より大となるようにする。ヒトのヘマクリット値は通常50%以下であるから、血球溜め（血球成分収容部）501の容量は、採

血量の 1 / 2 以上とするのが好ましい。血球溜めの容量は、U 字流路の流路長・断面積も考慮して決定することができる。なお、ヘマクリット値が高く、血球溜め上端 A を越えて血球が分画されるような場合には、採血量を減らすことにより対処できる。

- 5 遠心分離後、流路 3 0 3 最下流部に配置されている引き込み口（排出口） 3 0 4、3 0 5 に外部吸引ポンプを接続して、血漿分画 6 0 2 を分析手段 3 0 6、3 0 7 へと引き込んでいく。U 字流路の下流部 3 0 3 b と上流部 3 0 3 a の血漿分画 6 0 2 が血球分画 6 0 3 で遮られていないので、分離した血漿分画をすべて分析手段 3 0 6、3 0 7 へと導くことができる（図 6（C））。
- 10 血球分画は血球溜め 5 0 1 下部の内壁に遠心加重により固着している。従って、血漿分画を分析手段に吸引移動する際に、血球分画が移動することはない。血漿の吸引移動は、液性成分である血漿分画の移動のみで行うことができ、血球分画も併せて移動しなければならなかった従来の場合のように大きなポンプ力が必要とはならない。
- 15 このように血液分析装置内の流路に、遠心分離時の遠心方向に血球が沈澱する血球溜めを配置し、そこに遠心分離により血球を集積させ、U 字流路の上流、下流側の血漿分画が血球分画で分断されることなく、連続的に存在するようにすることができれば、分離したすべての血漿分画を分析手段へと引き込むことができ、かつそのときの引き込みに必要となるポンプ力は低くてすむ。このような血球溜
- 20 めの寸法は、U 字流路寸法と遠心分離を行う全血量からその 4 0 から 5 0 %（体積）が血球成分であることを考慮することで決定することができる。

なおこの実施態様では、外部ポンプを用いて血液の導入、血漿分画の吸引を行ったが、図 1 の従来装置のように電気浸透流を利用した移動手段を分析手段と引き込み口（排出口）との間に設けてもよい。この場合排出口 3 0 4、3 0 5 は流

25 路内に充填されていた緩衝液の排出口となる。

第1実施例

図5に示した血液分析装置を作製し、血液試料を血液分析装置内に導入して遠心分離を行い、その後血漿分画の吸引を行った。ただし、簡単のため血液分析装置内の分析手段は1つにした(図8参照)。血液分析装置は0.5mm厚の2枚のポリエチレンテレフタレート(PET)基板を用意し、一方の基板上に、モールドイングによって流路303を形成し、もう一方の基板上には、血液導入口302、血液引き込み口(排出口)801、およびカーボンペーストで形成した電極上に水素イオン感応膜を塗布したものを分析手段802として作製、配置した。図8に、血液分析装置210とその上に形成した流路303の寸法の概略を示す。なお流路の深さはすべて100 μ mである。

この血液分析装置210の血液導入口302から1 μ Lのヒトの全血を導入した。血液の導入には排出口801に取り付けた電磁ポンプの吸引力を用いた。そのときの吸引負圧は、大気圧から-7kPaであった。血液導入後に、図7に示したような遠心機により血液分析装置を遠心した(10000rpm、2250G、1分)。遠心後の血液分析装置流路内は図6(B)に示すように血球溜め501下部に血球分画603が沈澱し、また血漿成分はその血球溜め上部と上流および下流のU字流路内に血球成分によって血漿成分同士が絶縁されることなく連続的に存在するように分離された。この後に分析手段下流部にある引き込み口304、305に電磁ポンプを接続し、当該血漿成分を分析手段に導いた。このとき血球成分は移動せず、血漿成分のみ移動した。ここで血漿中の水素イオン濃度を調べたところ、pH 7.4を示し、健常者の血漿pH値とほぼ同じであった。また血漿引き込み圧は、全血引き込み圧と同じ大気圧より-7kPaで問題なく引き込むことができた。

また、図8の血液分析装置を改造し、血液導入口302に外径100 μ m、内径50 μ mの中空の採血針を取り付けた場合についても同様な試験を行った。まず血液分析装置上の採血針をヒトの前腕部に穿刺し、約1 μ Lの血液を採取して

当該血液分析装置上に導く。その後は上で述べた手順と同様に遠心分離により血漿と血球分画に分離し、血漿のみを分析手段へと導いた。ここで血漿の水素イオン濃度を調べたところ、上の場合と同様に pH 7.4 を示し、健常者の血漿の値とほぼ同じであった。

5

比較例

図 3 に示した従来の血液分析装置を用いて全血の引き込み、遠心分離による血漿および血球成分分離、および血漿成分の分析手段への引き込みを同様に行った。このときの U 字流路の幅は $500\ \mu\text{m}$ 、深さは $100\ \mu\text{m}$ とした。またこの場合も
10 分析手段は一つとし、カーボンペーストで形成した電極上に水素イオン感応膜を塗布したものをを用いた。このような血液分析装置の血液導入口 204 から $1\ \mu\text{L}$ のヒトの全血を導入した。血液の導入には排出口 205 に取り付けした電磁ポンプを用い、そのときの吸引負圧は、大気圧から $-7\ \text{kPa}$ であった。

図 3 (C) に示すが如くに血液分析装置内に血液を導入した後に、図 7 に示したような遠心分離器に血液分析装置を設置し、遠心分離を行った ($10000\ \text{rpm}$ 、 $250\ \text{G}$ 、1 分)。遠心により、図 3 (D) に示すように単 U 字管内で血漿成分 309、310 と血球成分 311 が分離された。このときの特徴は図 5 に示したような流路途中に血球溜めを有する血液分析装置の場合とは異なり、単 U 字流路の上流側と下流側の血漿成分 309、310 が血球分画 311 により絶縁された。
15

この後に分析手段下流部にある引き込み口 304、305 に電磁ポンプを接続し、単 U 字流路の下流側の血漿成分 310 を分析手段 306、307 へと導いた。このときの吸引負圧を第 1 実施例と同じ $-7\ \text{kPa}$ としても血漿を引き込むことはできなかった。吸引負圧を徐々に上昇させていき、大気圧から $-38\ \text{kPa}$ に達したところで流路下流側の血漿 310 が移動しはじめた。またこの移動に伴い、
20 U 字流路下部の血球成分および上流側血漿成分も同時に移動した。第 1 実施例の場合の血漿引き込み圧と比較して、この比較例ではより大きな血漿引き込み圧が
25

必要であった。これにより本発明の効果がより鮮明となった。

このような過大な引き込み圧が必要とされるのは遠心分離により流路の壁に付着している血球分画を成分と共に血漿成分を引き込まなくてはならないためであると考えられる。さらに図3のような単U字血液分析装置の場合、過大な引き込み圧で血漿を引き込んでも、実際に分析手段へと引き込める血漿は下流側に分離された血漿成分のみで、血球分画で塞がれた上流側の血漿は分析手段へ引き込むことができない。従来の血液分析装置においては分離された血漿の約半分しか分析手段へと導けない。これに対し、図5に示した本発明の血球溜めを有する血液分析装置の場合には、分離したすべての血漿を分析手段へと導くことができる。従って、同量の血漿を分析手段へと導く場合、本発明の場合の方が従来の場合よりも血液分析装置内に導入する血液量が約半分でよいという利点がある。

第2実施例

図9(A)に示すような血球溜め501Aを有する血液分析装置220を作製し、血液を当該血液分析装置内に導入して遠心分離を行い、その後血漿分画602の引き込みを行った。なお、当該血液分析装置および流路形状の寸法は、図8に示した寸法にほぼ類似している。この血液分析装置のと、図8の血液分析装置との違いは、図9(B)に示したように血液を血液分析装置上に導入して遠心分離を行なったときに、分離した血漿602と血球分画603の界面の面積が図8で示した血液分析装置の場合と比して小さくなっているところである。これにより、血漿吸引時に血球分画に印加される引き込み力が小さくなり、血球分画表面が攪乱されて血漿に混入するのを防止することができ、血漿のほぼ全てを分析手段へと移動させることを確実にする。

実際に血液導入口から1 μ Lのヒトの全血を導入して遠心分離を行なったところ、図9(B)に示すように血球と血漿成分が分離された。またその後に引き込み口801にポンプを接続し、大気圧から-7kPaの圧力で引いたところ血漿

成分602のみを分析手段802側へと引き込むことができた。このとき血球溜めにある血球成分は移動せず、そのまま血球溜めに留まっていた。

第3実施例

5 図10(A)に示すようにU字流路303下部の流路幅を広くしてここを血球溜め501Bとした血液分析装置230を作製し、第1, 2実施例と同様に血液の導入、血漿血球成分分離および血漿成分引き込みを試みた。その結果、血液導入後の遠心分離により、図10(B)に示す如く血漿602と血球分画603が分離され、また血球分画603を攪乱することなく血漿分画602のみを引き込み、分析手段802へと導くことができた。本実施例より遠心により血漿と血球分画に分離したときに、血漿分画が血球分画によって分断されずに連続的に存在していることが特に重要であることが分かる。これは第1, 2実施例で示した血球溜めを流路途中に有する血液分析装置においても同様である。

第4実施例

15 U字流路303下部の流路幅と流路深さを大きくした血液分析装置を作製した。すなわち、図11(A)に示すU字流路303下部の斜線部1101の深さを、他の流路部分の深さ100 μ mより深い300 μ mとした血液分析装置240を作製した。第3実施例と同様に血液の導入、血漿分離および血漿成分引き込みを試みた。遠心分離により、図11(B)に示す如く血漿602と血球分画603に分離され、また血球分画603は移動させることなく血漿分画602のみを引き込み、分析手段802へと導くことができた。

25 ここで注目すべきことは、図11(A)のU字流路下部1101の深さが深く、この部分の容積は図10の血液分析装置のそれに比して3倍大きくなるためにここに血球成分が集積する。したがって第3実施例の場合と同量の血液を血液分析装置上に導入して遠心分離をした場合、図11上面から見た血球分画603のの

構成面積が、血漿成分が占める面積に対する比率は、図10の場合よりも小さくなる。したがってU字流路下部における血漿成分の構成する幅が図10(B)に比して広くなることから、この血球および血漿成分分離後の血漿成分引き込みにおいては、より低い引き込み圧力で当該血漿成分を引き込むことができる。

5

第5実施例

図12(A)に示すような単U字流路血液分析装置を作製し、これまでの実施例と同様に血液の導入、血漿血球成分分離および血漿成分引き込みを試みた。このとき流路の幅や深さは導入する血液の量(必要となる血漿の量)から決定した。すなわち、遠心分離後に血漿成分が流路上で血球分画で分断されずに図12(B)のように連続的に存在するようにした。実際に図12(C)に示すような寸法で流路深さ100 μ mの単U字流路303を有する血液分析装置250を作製して、この血液分析装置上に0.1 μ Lの血液を導入し、遠心分離を行った。その結果、図12(B)に示すように血漿分画602と血球分画603とに分離され、その後分離したすべての血漿分画のみを分析手段802に導くことができた。このように必要となる血漿量から導入する血液量を見積もり、遠心分離後に血漿成分が流路上で血球分画で分断されないように流路の設計を行えば、必ずしも図5に示したような血球溜めは必要ではない。流路設計に基づいて設けられたU字流路最下部が血球溜め(血球分画収容部)を構成することになる。

20

産業上の利用可能性

以上のように、本発明の血液分析装置は、装置内に血液を導入する流路の一部に、遠心力加圧方向の位置して血球分画を集める血球分画収容部を設け、収容部の上流側及び下流側の流路が連通するようにした。これにより、遠心分離後の血球分画に分断されることなく、流路上流部と下流部の血漿分画が連続して存在す

25

ることができる。従って、従来の流路構成の場合に比して、より少ない全血量、単純には半分の量の血液試料で、必要量の血漿を分析手段へと導くことができる。全血試料の有効利用を図れるので、流路長の短縮化、装置の小型化に適する。さらに採血量を減少させることにより被採血者の負担を軽減することができる。

- 5 また、分離された血漿分画は血球分画で分断されないで、より小さな吸引負圧により移動させることができる。血漿引き込みに要するポンプ能力を小さくできることから周辺装置の小型化、コストダウンを図れる。

請求の範囲

1. 血液導入口と排出口との間を連通する流路と、この流路の途中に設けられた血漿分離手段とを備える血液分析装置において：

5 前記流路は、遠心力加圧方向に延伸する前記流路の上流部と遠心力加圧逆方向に延伸する下流部とを備え；

前記血漿分離手段はこれら流路上流部と下流部の間にあって、遠心力加圧方向側に位置して血球分画を沈殿させて収容する血球分画収容部を備え、前記流路の上流部及び下流部は血球分画収容部に接しつつ血球分画収容部の
10 上部で互いに連通するように構成されていることを特徴とする血液分析装置。

2. 前記流路の少なくとも一部はU字型流路であり、このU字型流路最下部が前記血球分画収容部であることを特徴とする請求項1の血液分析装置。

3. 前記流路の少なくとも一部はU字型流路で構成され、このU字型流路最下部が前記血球分画収容部であり、

15 U字型流路最下部の上部内壁から遠心力加圧方向に位置する前記血球分画収容部の容積が、前記流路に導入される血液中の血球分画量よりも大であることを特徴とする請求項1の血液分析装置。

4. 前記血漿分離手段と前記排出口の間に、血漿の成分分析を行う分析手段を備えることを特徴とする請求項1の血液分析装置。

20 5. 前記血液導入口には、採血針が取り付け可能とされていることを特徴とする請求項1の血液分析装置。

6. 以下のステップからなる血漿分離方法：

(1) 血液導入口と排出口との間を連通する流路であって、血液導入口から遠心力加圧方向に延伸する上流部と、この下流にあって遠心力加圧逆方向に
25 延伸する下流部とを備える流路と；

流路上流部と下流部の間にあって遠心力加圧方向側に位置して血球成分を

沈殿させて収容する血球分画収容部を有し、前記流路の上流部及び下流部は血球分画収容部に接しつつ血球分画収容部の上部で互いに連通するように構成されている血漿分離手段とを備えるチップ状血液分析装置を用意し；

(2) 前記血液導入口から前記流路に全血試料を導入し；

- 5 (3) 血液分析装置を前記血球分画収容部が遠心力加圧方向となるように遠心することにより、血液試料中の血球成分を前記血球分画収容部に沈殿させる一方、前記流路の上流部及び下流部に遠心上清として分離された血漿を、前記血球分画収容部内の血球分画と接しつつ、互いに連続的に存在させる。

- 10 7. 前記血液分析装置は前記血漿分離手段と前記排出口の間に血漿中の成分分析を行う分析手段を備え、

前記ステップ(3)の後に、前記流路の上流部及び下流部に連続的に存在する血漿を前記分析手段に導くことを特徴とする請求項6記載の血漿分離方法。

図1

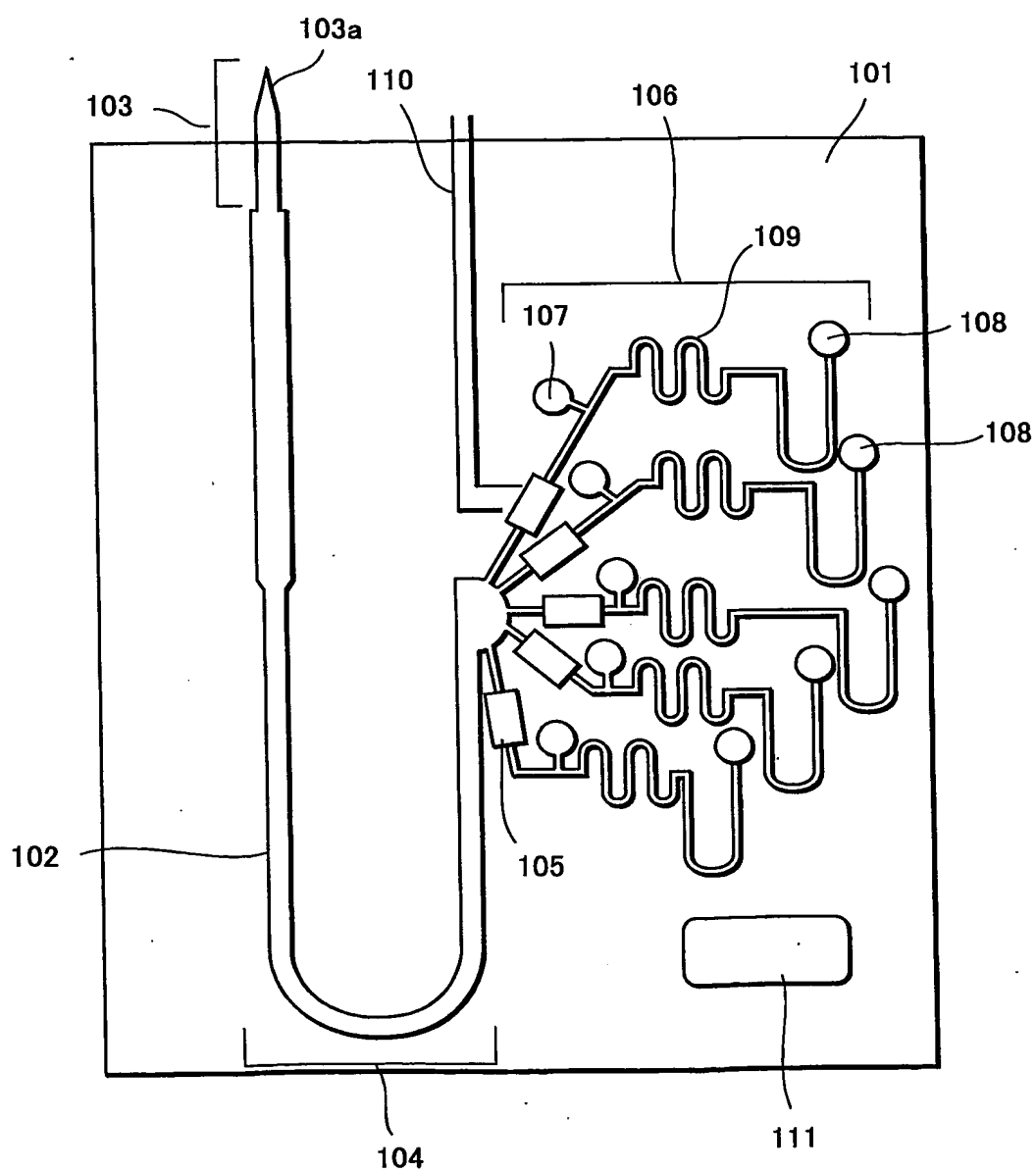


図 2

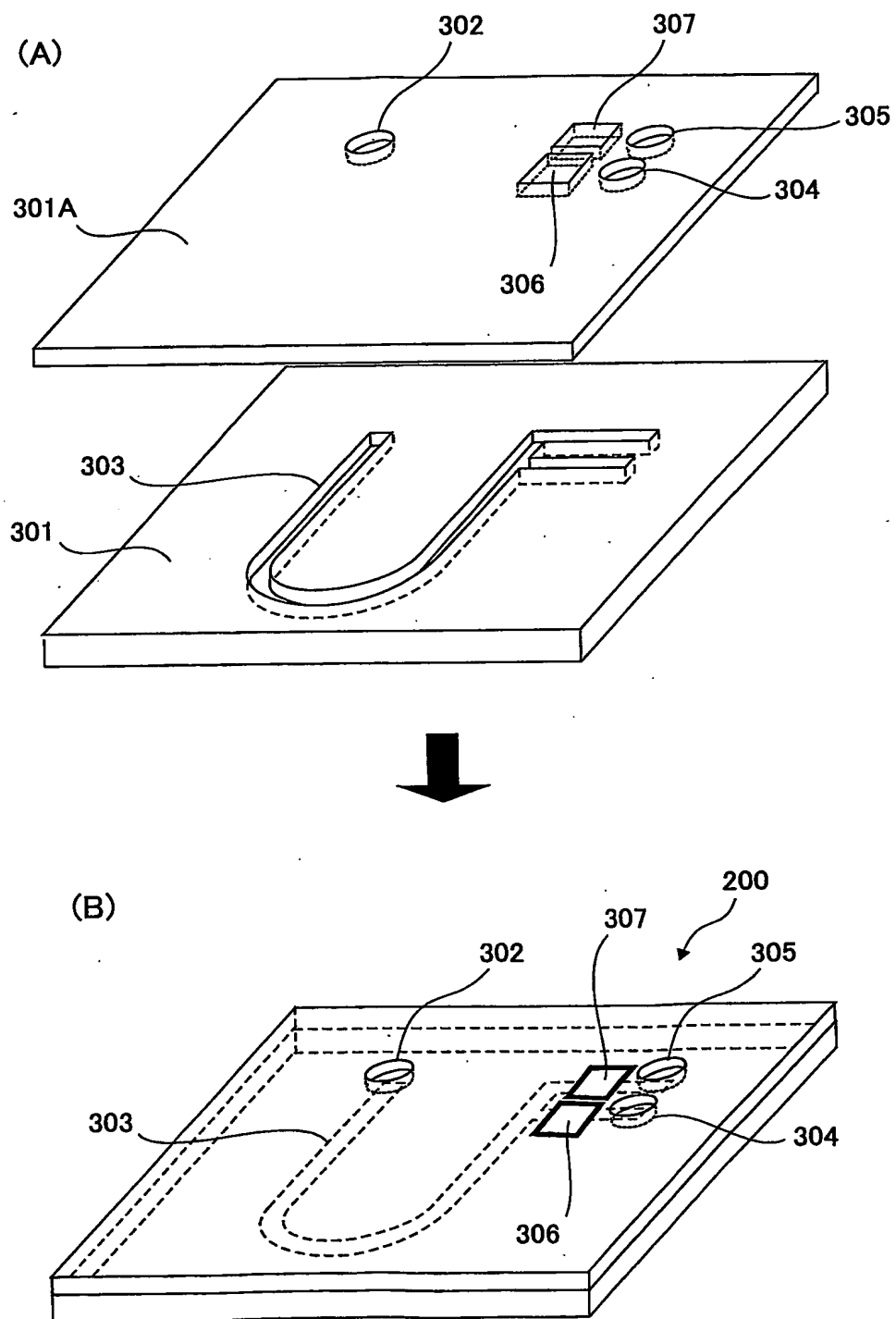


図 3

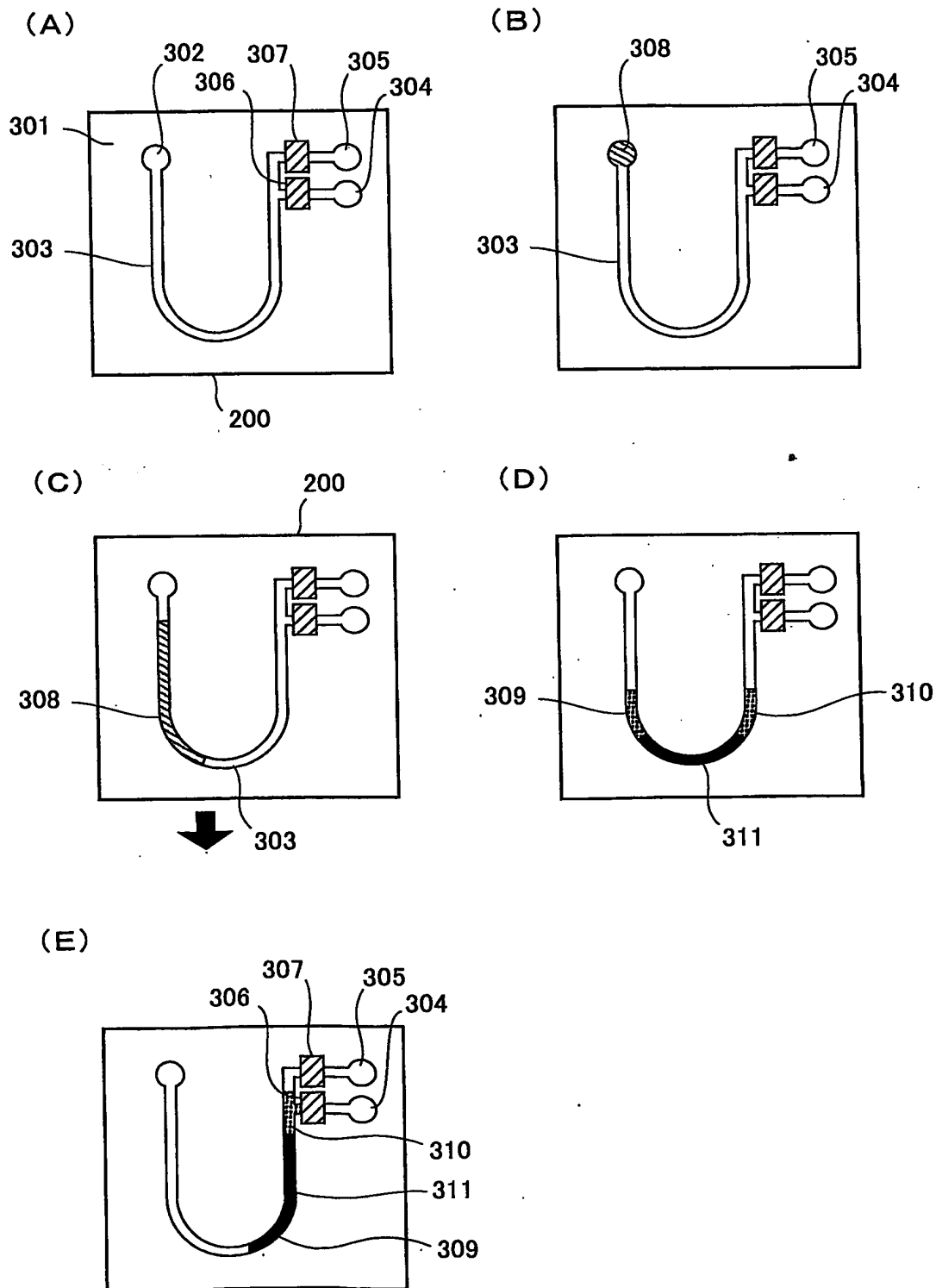


図 4

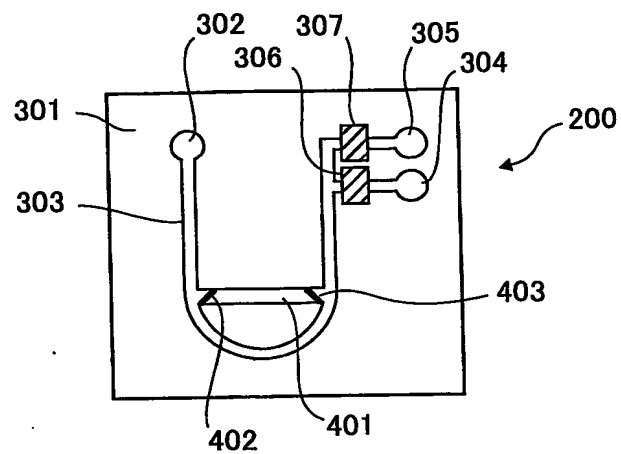


図 5

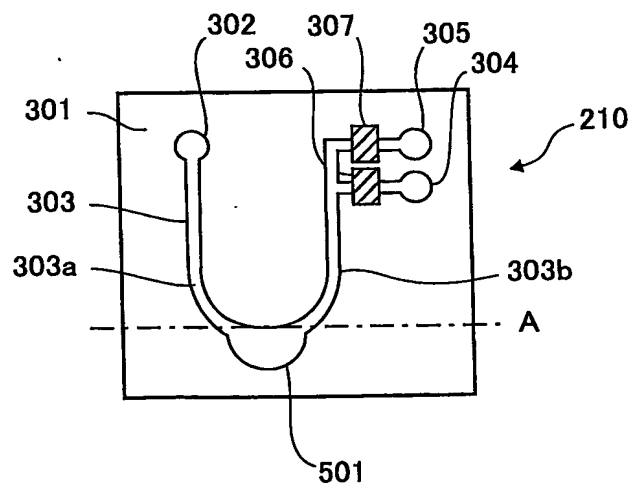


图 6

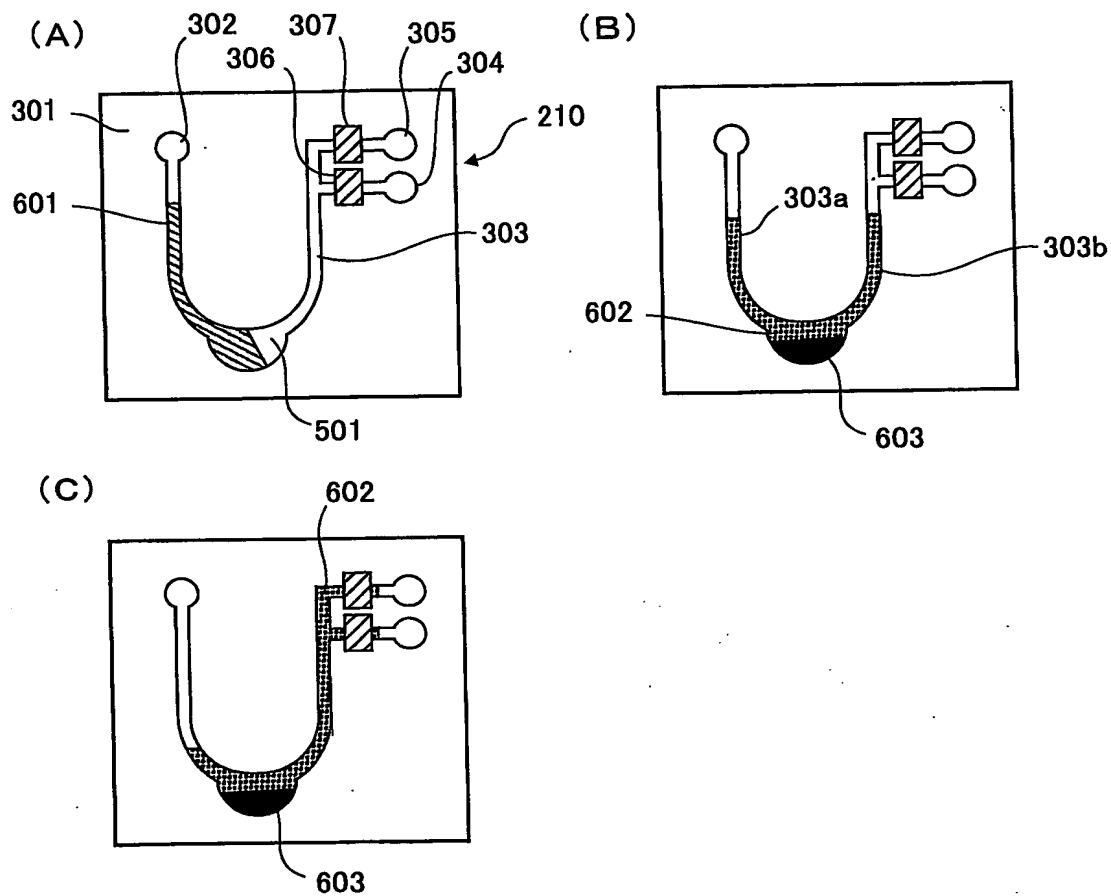


图 7

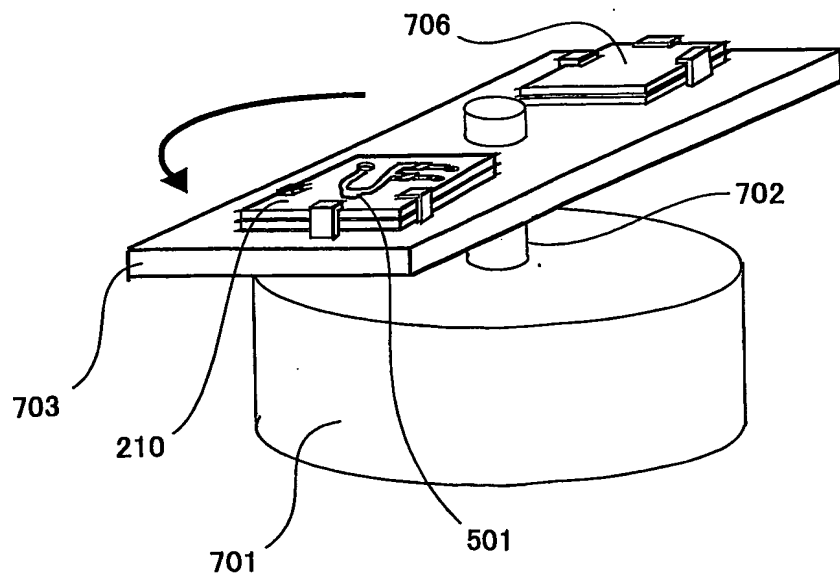


图 8

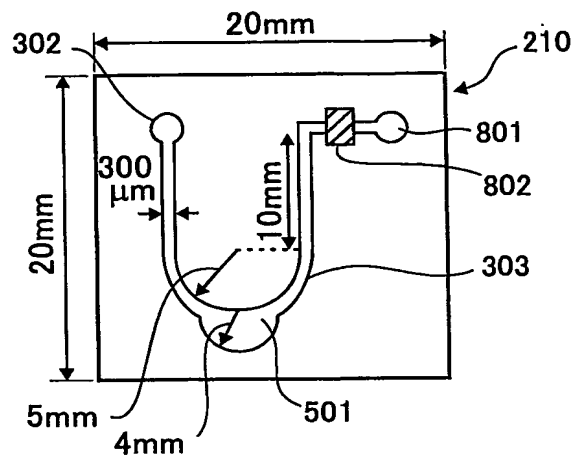


图 9

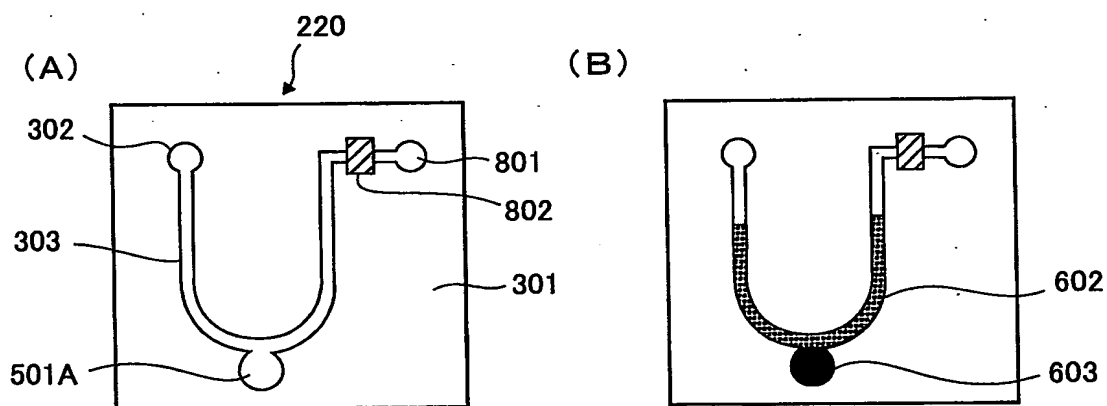


图 10

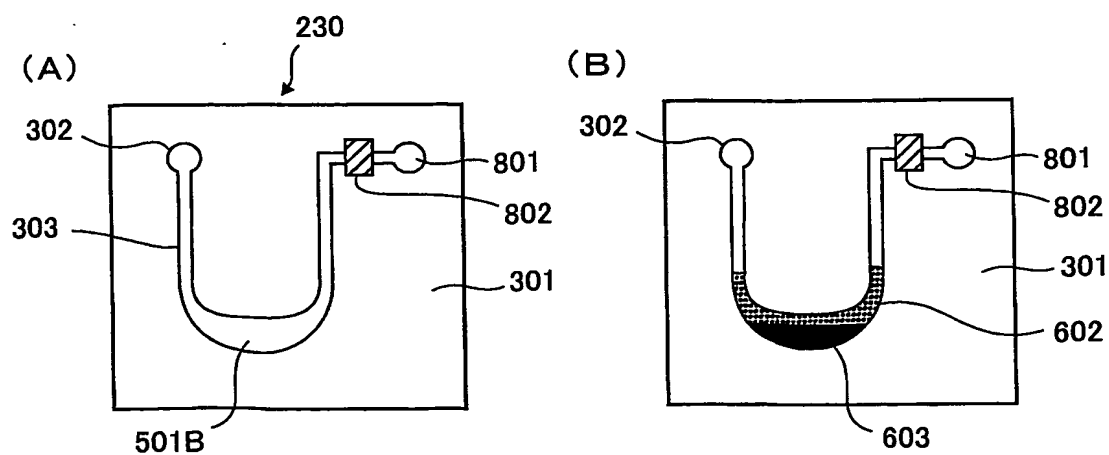


図 1 1

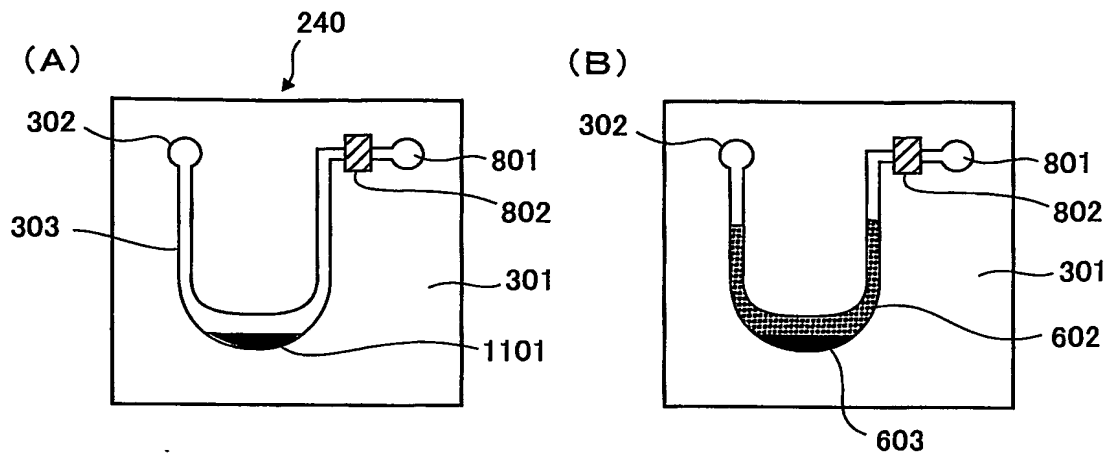
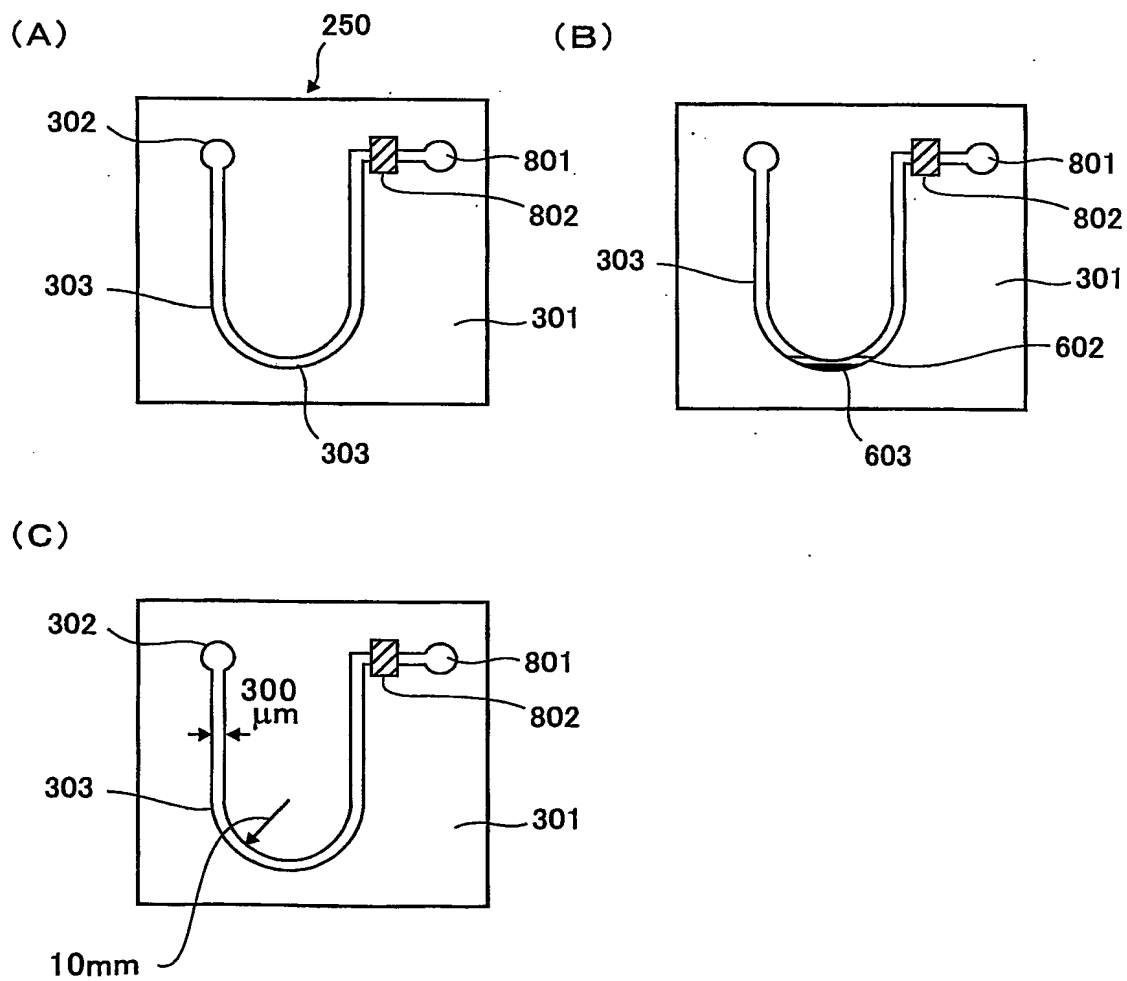


図 1 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/11909

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ G01N1/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ G01N1/00-1/44, G01N33/48, G01N35/00, A61K35/14,
B04B1/00-15/12

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2003
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2003	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2003

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JOIS (JICST FILE)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2001-258868 A (Jun KIKUCHI), 25 September, 2001 (25.09.01), Full text; all drawings & EP 1267166 A & WO 1069242 A1	1-7
Y	JP 9-506501 A (Baxter International, Inc.), 30 June, 1997 (30.06.97), Page 23; all drawings & US 5641622 A1 & EP 653062 A	1-7
P,X	JP 2003-83958 A (Jun KIKUCHI), 19 March, 2003 (19.03.03), Par. No. [0003]; Figs. 10, 11 (Family: none)	1-7

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not
considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing
date
"I" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is
cited to establish the publication date of another citation or other
special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other
means
"P" document published prior to the international filing date but later
than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or
priority date and not in conflict with the application but cited to
understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be
considered novel or cannot be considered to involve an inventive
step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be
considered to involve an inventive step when the document is
combined with one or more other such documents, such
combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
06 January, 2004 (06.01.04)

Date of mailing of the international search report
20 January, 2004 (20.01.04)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N1/10

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N1/00-1/44, G01N33/48, G01N35/00,
A61K35/14, B04B1/00-15/12

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2003年
日本国登録実用新案公報	1994-2003年
日本国実用新案登録公報	1996-2003年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JOIS (JICSTファイル)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 2001-258868 A (菊地純) 2001. 09. 25、 全文、全図 & EP 1267166 A & WO 1069242 A1	1-7
Y	JP 9-506501 A (バクスター、インターナショナル、インコ ーポレイテッド) 1997. 06. 30、第23頁、全図 & US 5641622 A1 & EP 653062 A	1-7
P, X	JP 2003-83958 A (菊地純) 2003. 03. 19、 【0033】、【図10】及び【図11】 (ファミリーなし)	1-7

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

2004. 01. 06

国際調査報告の発送日

20. 1. 2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

遠藤 孝徳

2 J

3 2 1 0

電話番号 03-3581-1101 内線 3251